

餌料生物としての珪藻 *Chaetoceros simplex*  
のビタミン B 群について

金 沢 昭 夫\*

On the Vitamin B of a Diatom, *Chaetoceros simplex*, as the Diet  
for the Larvae of Marine Animals

Akio KANAZAWA\*

Abstract

The vitamin B contents of a diatom, *Chaetoceros simplex* OSTENFELD var. *calcitrans* PAULSEN, as the diet for the larvae of marine animals have been measured by a microbiological method (Table 3).

The vitamin B contents of *Chaetoceros simplex* were ascertained to be rich generally. In comparison with *Chlorella*, the one having the highest vitamin contents in algae, it was found that the contents of thiamine, riboflavin, nicotinic acid and folic acid in *Chaetoceros* were lower than in *Chlorella*, but vitamin B<sub>6</sub> and vitamin B<sub>12</sub> were equal to those in *Chlorella*, and pantothenic acid and biotin were higher than those in *Chlorella*.

From these results, it was concluded that *Chaetoceros simplex* is a superior vitamin source as the diet for the larvae of marine animals.

近年、沿岸増・養殖用の種苗生産の目的で各種の水産動物幼生の飼育が試験されているが、ふ化後初期の幼生に対する適当な餌料生物の選択および入手が問題になっている。梅林<sup>1)</sup>により分離された珪藻の一種、*Chaetoceros simplex* は大きさが 3—4 $\mu$  で海水中に懸垂すること、大量培養が容易であること、水質に悪影響をあたえぬことなどから、クロアワビ、アサリ、ハマグリ、シオフキ、ムラサキイガイ、*Artemia* の nauplius, ある種の Copepoda などの餌料生物として有効であることがわかり<sup>1), 2), 3)</sup>、またマベ<sup>4)</sup> やアカウニ<sup>5)</sup> などについても良い結果がえられている。

一般に餌料生物は消化し易く、栄養価の高いことが必要条件であるが、餌料生物の栄養的価値についての研究は少ない。荻野<sup>6)</sup> は *Chaetoceros simplex* など数種の天然餌料の一般組成および蛋白質のアミノ酸組成を分析し、これらの天然餌料はいずれも栄養価の優れた蛋白質の含量が高いことを指摘した。

本研究は *Chaetoceros simplex* について、餌料生物の栄養的価値を決定する重要な因子の一つであるビタミン B 群を測定し、他の藻類と比較した結果を報告する。

\* 鹿児島大学水産学部水産化学教室 (Laboratory of Fisheries Chemistry, Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Kagoshima, Japan)

## 試料および実験方法

試料 分析に供した *Chaetoceros simplex* OSTENFELD var. *calcitrans* PAULSEN は鹿児島県水産試験場大島分場より提供されたもので、培養および試料の処理法は次の通りである。

天然（綿糸過）海水 8—9 l に対して梅林<sup>1)</sup>の人工海水1—2 l を加え、80—90°C で30分間滅菌した培養液を用いて、蛍光灯下（照度 1000 lux 位）で通気しながら、23—25°C、約7—10日間培養したのち（繁殖濃度 120 万 cells/ml 位）、3000 rpm で10 分間遠心分離して藻体を集め、食塩水で洗滌後、70—80°C で乾燥し、分析に用いるまで冷蔵庫に密封保存した。

Table 1. Microbiological method for vitamin determination

Vitamins	Preparation of samples	Test organisms	Incubation temperature and time	Method
Thiamine	The sample (1 g.) was heated at 100°C with 10 vol. of N/10 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> for 30 min., hydrolyzed with 100 mg. of Takadiastase (37°C, 24 hrs., pH 4.5); pH adjusted to 6.6	<i>Lactobacillus fermenti</i> 36 (ATCC 9338)	37°C, 16 hrs.	Turbidimetry
Riboflavin	The sample (1 g.) was hydrolyzed with N/10 HCl at 15 lbs. for 15 min., pH adjusted to 4.5, filtered, pH adjusted to 6.8	<i>Lactobacillus casei</i> (ATCC 7469)	37°C, 18 hrs.	Turbidimetry
Nicotinic acid	The sample (1 g.) was hydrolyzed with 10 ml. of 1 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> at 15 lbs. for 30 min.; neutralized to pH 7.0	<i>Lactobacillus arabinosus</i> 17-5 (ATCC 8014)	37°C, 18 hrs.	Turbidimetry
Pantothenic acid	The sample (1 g.) was suspended in 0.2% acetic acid with 0.4 g. of Mylase P, at pH 4.5; extracted at 50°C for 3 hrs.; neutralized to pH 6.8	<i>Lactobacillus arabinosus</i> 17-5 (ATCC 8014)	37°C, 18 hrs.	Turbidimetry
Vitamin B <sub>6</sub> -complex	The sample (1 g.) was hydrolyzed with 50 ml. of 0.44 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> at 20 lbs. for 1 hr.; pH adjusted to 5.2	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> 4228 (ATCC 9090)	30°C, 16 hrs.	Turbidimetry
Biotin	The sample (1 g.) was hydrolyzed with 25 ml. of 2 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> at 15 lbs. for 1 hr.; neutralized to pH 6.8-7.0	<i>Lactobacillus arabinosus</i> 17-5 (ATCC 8014)	37°C, 18 hrs.	Turbidimetry
Folic acid	The sample (1 g.) was suspended in 1 M Na-acetate with 100 mg. of Takadiastase, at pH 4.0; extracted at 37°C for 24 hrs.; neutralized to pH 6.8	<i>Streptococcus faecalis</i> R (ATCC 8043)	37°C, 16-24 hrs.	Turbidimetry
Vitamin B <sub>12</sub>	The sample (1 g.) was hydrolyzed with KCN (1 mg./μg. of B <sub>12</sub> ) at pH 4.5-5.0 at 15 lbs. for 15 min.; pH adjusted to 6.0	<i>Lactobacillus leichmannii</i> (ATCC 4797)	37°C, 18-24 hrs.	Turbidimetry

一般分析法 粗蛋白質，粗脂質，粗繊維および灰分は常法により定量した。炭水化物は上記総計との差により算出した。

ビタミンB群の定量法 ビタミンB群はチアミン，リボフラビン，ニコチン酸，パントテン酸，ビタミンB<sub>6</sub>，ビオチン，葉酸およびビタミンB<sub>12</sub>を微生物学的定量法により測定した。試料の調製法，定量菌，培養条件などは Table 1 に示す通りである。

結果および考察

*Chaetoceros simplex* の一般組成は Table 2 に示す。*Chaetoceros simplex* の蛋白質含量は 22.8

Table 2. Chemical composition of diatom, *Chaetoceros simplex*

	% on dry basis
Crude protein	22.8
Crude fat	18.1
Crude fiber	2.1
Ash	35.2
Carbohydrate*	21.8

\* by difference

%で，一般に海藻類より高い値を示しているが，緑藻 *Chlorella* の 50% には及ばない。これまで珪藻類の蛋白質含量は高いことが報告されており<sup>7),8),9)</sup>，荻野<sup>6)</sup>は *Chaetoceros simplex* について 34.3% を測定している。しかし藻体の化学組成は培養液の組成や藻体の年令などで異なり，とくに窒素欠乏培養液の古い藻体では蛋白質が少なく脂質が増加するので<sup>10),11)</sup>，荻野の測定値に比べて蛋白質含量が少なく脂質含量が多いのは，これに起因するのではないかと推定される。粗繊維は 2.1% で少ないが，これは cellulose または hemi-cellulose の細胞膜が少なく，餌料として消化され易いものと考えられる。灰分は 35.2% で高い値を示している

Table 3. Vitamin B contents in diatom, *Chaetoceros simplex* and green algae, *Chlorella ellipsoidea* and *Scenedesmus obliquus* ( $\mu\text{g./g.}$  on dry basis)

Vitamins	Diatom	Green algae	
	<i>Chaetoceros simplex</i>	<i>Chlorella ellipsoidea</i>	<i>Scenedesmus obliquus</i>
Thiamine	3.15	10-23	2.7
Riboflavin	5.33	23-37	38- 43
Nicotinic acid	62.3	112-125	73-107
Pantothenic acid	29.5	3.5-8.6	12-17
Vitamin B <sub>6</sub> -complex	1.84	0.3-2.5	1.8**
Biotin	1.75	0.19-0.23	0.2
Folic acid	2.10	22-47	6.0
Vitamin B <sub>12</sub>	0.0468	0.042-0.089*	0.0015*** (fresh)
Authors	present author	MORIMURA <sup>12)</sup> *HASHIMOTO and SATO <sup>14)</sup>	MEFFERT and STRATMANN <sup>18)</sup> **Pyridoxine ***HASHIMOTO and SATO <sup>14)</sup>

が、珪藻の場合藻体に Si を多量に含むためと思われる。

*Chaetoceros simplex* のビタミン B 群含量はチアミン 3.15, リボフラビン 5.33, ニコチン酸 62.3, パントテン酸 29.5, ビタミン B<sub>6</sub> 1.84, ビオチン 1.75, 葉酸 2.10 およびビタミン B<sub>12</sub> 0.0468  $\mu\text{g/g}$  で、緑藻 *Chlorella ellipsoidea*<sup>12),14)</sup>, *Scenedesmus obliquus*<sup>13),14)</sup> と比較した値を Table 3 に示す。*Chaetoceros simplex* のビタミン B 群は海藻類<sup>15),16),17),18)</sup> に比較すれば一般にその含量は高い。ビタミン含量の最も高い藻類の一つである *Chlorella* と比較しても、チアミン, リボフラビン, ニコチン酸, 葉酸は *Chlorella* より低い値を示しているが、ビタミン B<sub>6</sub>, ビタミン B<sub>12</sub> は *Chlorella* と同程度, パントテン酸とビオチンは *Chlorella* よりはるかに多く, *Chaetoceros simplex* は水産動物幼生の餌料生物として, 良質の蛋白質と共にビタミン給源としても優れたものといえる。

MORIMURA<sup>12)</sup> は *Chlorella ellipsoidea* を同調培養して, その生活環中における各段階においてビタミン含量が変化することを報告し, BROWN ら<sup>19)</sup>, OKUDA および YAMAGUCHI<sup>20)</sup> は藍藻のビタミン B<sub>12</sub> 合成能が培養液中に添加した Co により促進されることを, また著者<sup>21)</sup> も緑藻 *Ulva* のビタミン B<sub>12</sub> 合成能が培養液の組成により異なることを報告したが, 一般に藻体中のビタミン含量は培養液の種類や年令により変化するので, *Chaetoceros* の場合も前駆物質の添加など培養液の改良や培養法の吟味により, ビタミン含量はさらに増加することが可能であると考えられる。

本実験に使用した *Chaetoceros simplex* OSTENFELD var. *calcitrans* PAULSEN は bacteria-free 種による無菌培養の細胞ではないので, そのビタミン含量は *Chaetoceros* の細胞内で合成あるいは吸収されたものだけであるかどうか不明である。梅林<sup>1)</sup>によれば, *Chaetoceros simplex* はビタミン B<sub>12</sub> 無添加の培養液でも十分に繁殖したと述べているが, これは無菌培養ではなかったので, 果してビタミン B<sub>12</sub> を要求するかどうか明らかでない。また *Chaetoceros lorenzianus*, *Chaetoceros pelagicus*, *Chaetoceros sp.* はビタミン B<sub>12</sub> を要求することが報告<sup>22)</sup> されているので, 珪藻のビタミン合成に関する問題については, さらに無菌培養により明確にされなければならない。

試料を提供いただいた鹿児島県水産試験場大島分場の塩満捷夫氏, 黒木克宣氏ならびに御助言をいただいた本学柏田研一教授, 実験に協力された川崎満康氏に心から感謝の意を表す。

## 要 約

水産動物幼生の餌料生物としての珪藻 *Chaetoceros simplex* について, ビタミン B 群含量を微生物定量法により測定した結果, そのビタミン B 群含量は一般に豊富であり, 藻類中ビタミンを最も多量に含むものとして知られている *Chlorella* と比較しても, チアミン, リボフラビン, ニコチン酸, 葉酸含量は *Chlorella* より低い値を示したが, ビタミン B<sub>6</sub>, ビタミン B<sub>12</sub> は *Chlorella* と同程度, パントテン酸とビオチンは *Chlorella* を上廻り, *Chaetoceros simplex* は水産動物幼生の餌料生物として優れたビタミン給源であることがわかった。

## 文 献

- 1) 梅林 脩 (1961): 餌料生物としての *Chaetoceros simplex* の培養について. 水産増殖, 9, 147—150.
- 2) 相良順一郎 (1961): 貝類人工ふ化幼生の飼育. 水産増殖, 9, 102—104.

- 3) 相良順一郎 (1963)：種苗生産用餌料—アワビを中心として。水産増殖，臨時号2, 19—26.
- 4) 鹿児島水試大島分場 (1962—67)：マベの増殖に関する基礎的研究。鹿児島水試大島分場報告。
- 5) 山辺 晃 (1962)：アカウニ幼生の飼育について。水産増殖，10, 213—217.
- 6) 萩野珍吉 (1963)：数種天然餌料の化学的組成について。日水誌，29, 459—462.
- 7) 中井甚二郎 (1942)：重要海産プランクトン10種の化学成分，容積，重量及び大きさ。日本海洋学会誌，1, 45—55.
- 8) HARVEY, H. W. (1957)：“The Chemistry and Fertility of Sea Water”，27-28 (Cambridge University Press, London).
- 9) MARSHALL, S. M., and A. P. ORR (1960)：Feeding and Nutrition, in “The Physiology of Crustacea, T. H. WATERMAN, ed.”, Vol. 1, 248 (Academic Press, New York and London).
- 10) FOWDEN, L. (1962)：Amino Acids and Proteins, in “Physiology and Biochemistry of Algae, R. A. LEWIN, ed.”, 189 (Academic Press, New York and London).
- 11) MILLER, J. D. A. (1962)：Fats and Steroids, in “Physiology and Biochemistry of Algae, R. A. LEWIN, ed.”, 360-361 (Academic Press, New York and London).
- 12) MORIMURA, Y. (1959)：Synchronous Culture of *Chlorella* II. Changes in Content of Various Vitamins during the Course of the Algal Life Cycle. *Plant & Cell Physiol.*, 1, 63-69.
- 13) MEFFERT, E. M., and H. STRATMANN (1954)：Über die unsterile Grosskultur von *Scenedesmus obliquus*. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk., Abt. II.* 108, 154-180.
- 14) 橋本芳郎・佐藤篤司 (1954)：各種水産物中の動物性蛋白因子 (APF) 及びビタミン B<sub>12</sub> について—III. 海藻及びその他。日水誌，19, 987—990.
- 15) 金沢昭夫・柿本大壹 (1958)：海藻のビタミンに関する研究—I. 葉酸及びフォリン酸。日水誌，24, 573—577.
- 16) 金沢昭夫 (1961)：海藻のビタミンB群に関する研究—I. ビタミン含量について。鹿大水紀要，10, 38—69.
- 17) 金沢昭夫 (1963)：藻類のビタミン。日水誌，29, 713—731.
- 18) KANAZAWA, A., A. SAITO, and D. R. IDLER (1966)：Vitamins B in Dulse (*Rhodomenia palmata*). *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 23, 915-916.
- 19) BROWN, F., W. F. J. CUTHBERTSON, and G. E. FOGG (1956)：Vitamin B<sub>12</sub> Activity of *Chlorella vulgaris* Beij and *Anabaena cylindrica* Lemm. *Nature*, 177, 188.
- 20) OKUDA, A., and M. YAMAGUCHI (1960)：Nitrogen-fixing Microorganisms in Paddy Soils—VI. Vitamin B<sub>12</sub> Activity in Nitrogen-fixing Blue-green Algae. *Soil and Plant Food*, 6, 76-85.
- 21) 金沢昭夫 (1967)：藻類のビタミンに関する研究—XII. 緑藻のビタミンB<sub>12</sub>合成。日本水産学会年会発表。
- 22) 岩崎英雄 (1967)：微細藻類の栄養要求。日水誌，33, 1072—1083.